



**PENGARUH PEMBERIAN ASAM LEMAK TRANS
TERHADAP JUMLAH SEL DARAH PUTIH
TIKUS SPRAGUE DAWLEY**

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian laporan hasil penelitian
Karya Tulis Ilmiah mahasiswa Program Strata-1 Kedokteran Umum**

**JEFRI PRATAMA
G2A008102**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2012**

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN HASIL KTI

PENGARUH PEMBERIAN ASAM LEMAK TRANS TERHADAP JUMLAH SEL DARAH PUTIH TIKUS SPRAGUE DAWLEY

Disusun oleh

**JEFRI PRATAMA
G2A008102**

Telah disetujui

Semarang, 8 Agustus 2012

Pembimbing 1

Pembimbing 2

**dr. Kusmiyati Tjahjono, DK, M.Kes
19531109 198301 2 001**

**dr. Hardian
19630414 199001 1 001**

Ketua Penguji

Penguji

**dr. Santoso, M.Si.Med
19830213 200812 1 001**

**dr. Yora Nindita, M.Sc
19811111 200801 2 014**

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Jefri Pratama

NIM : G2A008102

Alamat : Jalan Menoreh Utara XII No. 9 Sampangan Semarang

Mahasiswa : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran
UNDIP Semarang.

Dengan ini menyatakan bahwa,

- (a) Karya tulis ilmiah saya ini adalah asli dan belum pernah dipublikasikan atau diajukan untuk mendapatkan gelar akademik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- (b) Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan orang lain, kecuali pembimbing dan pihak lain sepengetahuan pembimbing.
- (c) Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.

Semarang, 8 Agustus 2012
Yang membuat pernyataan,

Jefri Pratama

KATA PENGANTAR

Rasa syukur yang dalam penulis sampaikan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmatNya-lah laporan akhir Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Putih Tikus Sprague Dawley” ini dapat diselesaikan. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Penulis menyadari sangatlah sulit untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak penyusunan proposal sampai dengan terselesaikannya laporan hasil Karya Tulis Ilmiah ini.

Melalui kesempatan yang sangat berharga ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian laporan akhir ini, terutama kepada yang terhormat :

1. Prof. Sudharto P. Hadi, MES, PhD selaku Rektor Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di Universitas Diponegoro
2. dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik dan lancar
3. dr. Kusmiyati Tjahjono, DK, M.Kes selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
4. dr. Hardian selaku dosen pembimbing metodologi penelitian yang juga telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
5. Dr. drh. Puji Astuti, M. P. selaku ketua Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Terpadu Unit IV Universitas Gadjah Mada yang telah membantu menyediakan sarana dan prasarana pemeliharaan hewan coba

6. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan kesempatan dan bantuan dana untuk melaksanakan Karya Tulis Ilmiah yang telah penulis usulkan
7. Orang tua beserta keluarga penulis yang senantiasa memberikan dukungan moral maupun material
8. Para sahabat yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah Ini
9. Serta pihak lain yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah yang telah disusun ini masih banyak kekurangannya. Maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kebaikan program ke depannya. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat dan digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 8 Agustus 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xii
ABSTRAK	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Permasalahan penelitian.....	4
1.3 Tujuan penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus.....	5
1.4 Manfaat hasil penelitian	5
1.5 Keaslian penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Asam lemak trans	8
2.1.1 Struktur kimia asam lemak trans	8
2.1.2 Asam lemak trans pada berbagai makanan	10
2.1.3 Batas asupan harian asam lemak trans.....	11
2.2 Sel darah putih.....	11
2.2.1 Pembentukan sel darah putih.....	11
2.2.2 Macam dan fungsi sel darah putih	13
2.2.3 Leukopenia	14

2.3	Radikal bebas	15
2.3.1	Definisi radikal bebas	15
2.3.2	Sifat radikal bebas	15
2.3.3	Macam radikal bebas dalam tubuh	16
2.3.4	Reaksi kerusakan oleh radikal bebas	16
2.3.4.1	Peroksidasi lemak.....	16
2.3.4.2	Kerusakan protein.....	17
2.3.4.3	Kerusakan DNA	17
2.3.5	Sumber oksigen reaktif	17
2.4	Pengaruh asam lemak trans pada sel darah putih	18
2.4.1	Asam lemak trans dan inflamasi.....	18
2.4.2	Asam lemak trans menyebabkan <i>respiratory burst</i> yang berlebihan.....	19
2.4.3	Asam lemak trans menyebabkan stres oksidatif sel darah putih	20
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		22
3.1	Kerangka teori	22
3.2	Kerangka konsep	22
3.3	Hipotesis.....	23
3.3.1	Hipotesis mayor	23
3.3.2	Hipotesis minor	23
BAB 4 METODE PENELITIAN		24
4.1	Ruang lingkup penelitian	24
4.2	Tempat dan waktu penelitian	24
4.3	Jenis dan rancangan penelitian	24
4.4	Sampel.....	25
4.4.1	Kriteria inklusi.....	25
4.4.2	Kriteria eksklusi.....	25
4.4.3	Kriteria <i>drop out</i>	25
4.4.4	Cara sampling.....	25
4.4.5	Besar sampel	25

4.5	Variabel penelitian.....	26
4.5.1	Variabel bebas	26
4.5.2	Variabel terikat	26
4.6	Definisi operasional	26
4.7	Cara pengumpulan data.....	27
4.7.1	Bahan	27
4.7.2	Alat	27
4.7.3	Jenis data	28
4.7.4	Cara kerja	28
4.7.4.1	Pemberian asam lemak trans	28
4.7.4.2	Perawatan hewan coba.....	28
4.7.4.3	Pengukuran sel darah putih	29
4.8	Alur penelitian	29
4.9	Analisis data	30
4.10	Etika penelitian.....	31
4.11	Jadwal Penelitian	31
	BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	32
5.1	Berat badan hewan coba	32
5.2	Jumlah sel darah putih hewan coba	34
	BAB 6 PEMBAHASAN	37
	BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	40
7.1	Simpulan	40
7.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA	42
	LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian penelitian	6
Tabel 2. Definisi operasional.....	26
Tabel 3. Jadwal penelitian.....	31
Tabel 4. Berat badan hewan coba	32
Tabel 5. Uji beda selisih berat badan hewan coba antar kelompok.....	33
Tabel 6. Jumlah sel darah putih hewan coba.....	35
Tabel 7. Uji beda selisih sel darah putih hewan coba antar kelompok	36
Tabel 8. Detail komposisi pelet tikus.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kimia berbagai macam asam lemak	9
Gambar 2. Skema pembentukan sel darah putih	12
Gambar 3. Struktur kimia radikal bebas	15
Gambar 4. Kerangka teori	22
Gambar 5. Kerangka konsep	22
Gambar 6. Skema desain penelitian.....	24
Gambar 7. Alur penelitian.....	29
Gambar 8. Berat badan hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian	33
Gambar 9. Selisih berat badan pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2	34
Gambar 10. Jumlah sel darah putih hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian	35
Gambar 11. Selisih jumlah sel darah putih pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Detail komposisi pelet tikus	45
Lampiran 2. <i>Ethical clearance</i> penelitian	46
Lampiran 3. Surat ijin penelitian	47
Lampiran 4. <i>Spreadsheet</i> data	48
Lampiran 5. Hasil keluaran software statistik	49
Lampiran 6. Dokumentasi penelitian	59
Lampiran 7. Biodata penulis	60

DAFTAR SINGKATAN

BCP	: <i>B-cell progenitor</i>
CLP	: <i>Committed lymphoid progenitor cell</i>
CMP	: <i>Committed myeloid progenitor cell</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
GM	: <i>Granulocyte and macrophage progenitor cell</i>
GP	: <i>Granulocyte progenitor</i>
HDL	: <i>High density lipoprotein</i>
HSC	: <i>Hematopoietic stem cell</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
LDL	: <i>Low density lipoprotein</i>
MCP	: <i>Monocyte chemotactic protein</i>
MCSF	: <i>Macrophage colony-stimulating factor</i>
MP	: <i>Monocyte progenitor</i>
MUFA	: <i>Mono unsaturated fatty acid</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NCP	: <i>Natural killer cell progenitor</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
PUFA	: <i>Poly unsaturated fatty acid</i>
ROI	: <i>Reactive oxygen intermediate</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
TCP	: <i>T-cell progenitor</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TNK	: <i>T-cell and natural killer progenitor cell</i>
USDA	: <i>United states department of agriculture</i>
WHO	: <i>World health organization</i>

ABSTRAK

Latar Belakang Suatu kondisi dimana sumsum tulang memproduksi sedikit sel darah putih disebut dengan leukopenia. Penyebab di Indonesia kemungkinan disebabkan oleh adanya tren perubahan gaya hidup, terutama pola makan barat yang mengandung tinggi kalori dan lemak bahkan juga tinggi asam lemak trans. Selain itu masyarakat juga banyak mengkonsumsi makanan goreng-gorengan (*deep frying*) yang mengandung tinggi asam lemak trans.

Tujuan Membuktikan pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley.

Metode Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain *Randomized Control Group Pretest and Posttest Design*. Subjek penelitian adalah 21 ekor tikus Sprague Dawley jantan berumur 8 minggu. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang diberi pakan standar, kelompok perlakuan 1 yang diberi pakan dengan asam lemak trans 5%, dan kelompok perlakuan 2 yang diberi pakan dengan asam lemak trans 10% selama 8 minggu. Masing-masing kelompok diambil darahnya sebelum dan sesudah perlakuan untuk diukur jumlah sel darah putihnya. Uji statistik yang digunakan adalah uji *paired t-test*, uji Wilcoxon dan uji *independent t-test*.

Hasil Didapatkan perbedaan selisih jumlah sel darah putih pada kelompok perlakuan 1 yang lebih rendah secara tidak bermakna ($p=0,6$) dibandingkan kelompok kontrol. Hal yang sama pada kelompok perlakuan 2 ($p=0,5$). Perbedaan selisih jumlah sel darah putih pada kelompok perlakuan 2 juga lebih rendah secara tidak bermakna ($p=0,3$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1.

Kesimpulan Terjadi penurunan selisih jumlah sel darah putih yang tidak bermakna pada tikus Sprague Dawley setelah mendapatkan pemberian asam lemak trans.

Kata Kunci asam lemak trans, sel darah putih, leukopenia, tikus Sprague Dawley.

ABSTRACT

Background A condition where the bone marrow produces fewer white blood cells is called leukopenia. Leukopenia trigger in Indonesia is probably caused by trend of changes in lifestyle, especially Western diet which is containing high calories and fat even high trans fatty acid too. In addition, Indonesian people also consume fried food very much (deep frying foods) which contains high trans fatty acid.

Aim To prove the influence of trans fatty acid intake into the counts of white blood cells Sprague Dawley rats.

Methods This study was purely experimental research with Randomized Control Group Pretest and Posttest Design. The subjects were 21 male 8 week old Sprague Dawley rats. The samples were divided into three groups; control group fed with standard, treatment group 1 fed with 5% trans fatty acid, and treatment group 2 fed with 10% trans fatty acid during 8 weeks. Each group took blood administration before and after intervention to count the white blood cells. The statistics tests were paired t-test, Wilcoxon test and independent t-test.

Results The difference in counts of white blood cells between treatment group 1 was not significantly lower ($p=0.6$) than the control group and so did treatment group 2 ($p=0.5$). The difference in counts of white blood cells between treatment group 2 was not significantly lower ($p = 0.3$) than treatment group 1.

Conclusion A decrease in the counts of white blood cells of Sprague Dawley rats were not significant after trans fatty acid consumption.

Keywords trans fatty acid, white blood cell, leukopenia, Sprague Dawley rats.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Tubuh manusia sesungguhnya selalu dihadapkan dengan risiko terinfeksi berbagai macam mikroorganisme. Hal ini dikarenakan pada tubuh manusia dapat ditemukan berbagai macam bakteri terutama pada seluruh mukosa tubuh. Akan tetapi bakteri tersebut dapat bersimbiosis dengan baik sehingga tidak begitu berbahaya. Pada mulut terdapat koloni bermacam bakteri, misalnya streptokokus dan pneumokokus. Bakteri yang sama juga ditemukan pada saluran napas meskipun dalam jumlah yang sedikit. Pada saluran cerna bagian distal, misalnya kolon, juga terdapat koloni basil yang sangat banyak.¹

Suatu kondisi dimana sumsum tulang memproduksi sedikit sel darah putih disebut dengan leukopenia. Setiap penurunan jumlah sel darah putih akan memungkinkan invasi jaringan sekitar oleh bakteri yang memang sudah ada pada tubuh tersebut dengan segera. Leukopenia juga dapat mengakibatkan perlindungan terhadap tubuh berkurang apabila menghadapi serangan berbagai macam bakteri dan agen lainnya yang berasal dari luar tubuh yang berusaha menginvasi jaringan tubuh. Leukopenia yang berat dapat berakibat buruk bagi kesehatan seseorang misalnya kematian organ tubuh tertentu, infeksi yang tidak pernah sembuh, syok sepsis, atau bahkan kematian.¹

Berbagai macam faktor pencetus dapat menyebabkan leukopenia. Salah satu faktor tersebut di Indonesia kemungkinan disebabkan oleh adanya tren

perubahan gaya hidup, diantaranya adalah tren pola makan yang condong kebarat-baratan. Pola makan seperti ini, misalnya konsumsi makanan cepat saji, mengandung tinggi kalori dan lemak bahkan juga mengandung asam lemak trans dalam kadar yang tinggi. Selain itu masyarakat Indonesia juga banyak mengkonsumsi makanan goreng-gorengan (jajanan yang digoreng secara *deep frying*) yang mengandung asam lemak trans yang tinggi pula. Minyak sayur yang dipakai untuk menggoreng memiliki sifat yang peka terhadap pemanasan sehingga ketika dipakai berulang kali akan mengalami proses polimerisasi termal dan reaksi oksidasi. Hal inilah yang menyebabkan terbentuknya asam lemak trans yang disertai dengan turunnya kadar asam lemak tidak jenuh cis.²

Asam lemak trans secara industri terbentuk melalui proses hidrogenasi parsial dari asam lemak tak jenuh. Proses hidrogenasi pada minyak sayur, yang mengandung asam lemak tak jenuh baik tunggal maupun jamak, bertujuan untuk meningkatkan stabilitasnya sehingga tidak mudah rusak dan meningkatkan titik lelehnya sehingga dapat menjadi padat atau semi padat pada suhu kamar. Minyak yang telah terhidrogenasi parsial tersebut kemudian dipakai dalam proses pembuatan kue, margarin dan produk lainnya yang semuanya berbentuk padat pada suhu kamar. Asam lemak trans juga dapat memberikan cita rasa gurih dan *crispy* sehingga banyak hasil olah industri minyak sayur yang disukai oleh anak-anak dan remaja.^{3,4}

Asam lemak trans juga dapat ditemukan pada produk daging dan susu hewan ruminansia karena terdapat aktivitas mikrobial pada lambung hewan tersebut yang dapat menghasilkan asam lemak trans. Asam lemak trans dari

sumber ini tidak memiliki dampak yang signifikan apabila dibandingkan dengan asam lemak trans buatan karena terdapat perbedaan struktur dan posisi ikatan rangkap pada struktur kimianya.^{5,6}

Penelitian menunjukkan bahwa mengonsumsi asam lemak trans dapat menimbulkan risiko kesehatan yang lebih besar daripada konsumsi asam lemak jenuh maupun asam lemak tidak jenuh jenis *cis* secara signifikan. Asam lemak trans dapat menimbulkan banyak hal yang merugikan bagi kesehatan misalnya meningkatkan risiko terkena penyakit jantung, inflamasi sistemik, disfungsi endotel, diabetes mellitus tipe 2 dan kanker.⁷⁻¹² Inflamasi sistemik yang disebabkan oleh asam lemak trans dapat menimbulkan stres oksidatif tubuh yang diperkirakan dapat meningkatkan aktivitas *respiratory burst* sel darah putih dan dapat merusak sel darah putih yang sedang beredar pada sistem peredaran darah.^{2,4}

Mengingat latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian asam lemak trans 5% dan 10% terhadap jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley. Sumber asam lemak trans 5% dan 10% didapatkan dari pelet tikus yang dibuat melalui proses hidrogenasi minyak nabati. Alasan penggunaan asam lemak trans dengan kadar 5% dan 10% dari total kalori adalah merujuk pada penelitian sebelumnya yang juga menyelidiki pengaruh asam lemak trans pada tikus. Penelitian ini menggunakan tikus Sprague Dawley karena tikus tersebut merupakan hewan yang cocok untuk penelitian yang berhubungan dengan lemak dan sudah digunakan dalam penelitian sebelumnya yang juga menyelidiki pengaruh asam lemak trans pada tikus Sprague Dawley.¹³

1.2 Permasalahan penelitian

Apakah pemberian asam lemak trans dapat menurunkan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley?

Permasalahan penelitian ini kemudian dijabarkan secara khusus sebagai berikut:

- 1) Apakah jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans?
- 2) Apakah jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans?
- 3) Apakah jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori lebih rendah dibandingkan dengan yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley.

1.3.2 Tujuan khusus

- 1) Mengukur penurunan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5%.
- 2) Mengukur penurunan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10%.
- 3) Menganalisis perbedaan selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori dengan yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans.
- 4) Menganalisis perbedaan selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori dengan yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans.
- 5) Menganalisis perbedaan selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori dengan yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori

1.4 Manfaat hasil penelitian

- 1) Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran tentang pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah putih dan dapat digunakan untuk dasar penelitian selanjutnya.

- 2) Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pelayanan kesehatan masyarakat tentang pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap perubahan jumlah sel darah putih sehingga dapat dilakukan tindakan promotif dan preventif yang sesuai.
- 3) Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap kejadian leukopenia.

1.5 Keaslian penelitian

Tabel 1. Keaslian penelitian

No.	Peneliti	Metode Penelitian	Hasil
1.	Dorfman SE, et al. <i>Metabolic implications of dietary trans-fatty acids</i> . 2009. ¹³	Desain penelitian: <i>Pretest Posttest Control Group Design</i> Variabel bebas: <i>intake</i> asam lemak trans dengan kadar 10% yang diberikan selama 8 minggu Variabel tergantung: berat badan, lemak <i>viscera</i> , pengaruh insulin, dan profil metabolik jaringan Subyek penelitian: tikus Sprague Dawley berumur 8 minggu	Asam lemak trans mengakibatkan gangguan metabolisme nutrisi pada liver, jaringan adiposa, dan otot skelet
2.	Egbung GE, et al. <i>Effect of Trans Fatty Acids Consumption on Some Haematological Indices in Albino Wistar Rats</i> . 2009. ¹⁰	Desain penelitian: <i>Posttest Only Control Group Design</i> Variabel bebas: <i>intake</i> asam lemak trans yang berasal dari 2 sumber, yaitu margarin dan minyak palem yang diberikan selama 6 minggu Variabel tergantung: jumlah total sel darah merah, hitung jumlah sel darah putih, total platelet, konsentrasi Hemoglobin dan <i>Packed Cell Volume</i> (PCV) Subyek penelitian: 50 ekor tikus wistar albino (berat berkisar antara 70-140 gram)	Penurunan signifikan dari jumlah total sel darah merah, hitung jumlah sel darah putih, total platelet, konsentrasi Hemoglobin dan <i>Packed Cell Volume</i> (PCV) akibat pemberian asupan asam lemak trans

Tabel 1. Keaslian penelitian (lanjutan)

No.	Peneliti	Metode Penelitian	Hasil
3.	Pandovese R, et al. <i>Modulation of rat neutrophil function in vitro by cis- and trans-MUFA</i> . 2009. ¹⁴	Desain penelitian: <i>Posttest Only Control Group Design</i> Variabel bebas: asupan asam lemak trans, asam lemak tak jenuh tunggal cis, dan asam lemak jenuh Variabel tergantung: kemampuan fagositik neutrofil, produksi O_2^- , produksi H_2O_2 , dan kemampuan kandidasidal Subyek penelitian: Kultur neutrofil tikus	Asam lemak trans meningkatkan kemampuan fagositik neutrofil, meningkatkan produksi O_2^- , meningkatkan produksi H_2O_2 , dan meningkatkan kemampuan kandidasidal

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya dalam hal subyek penelitian, desain penelitian, dan variabel yang akan diteliti. Dimana subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley jantan yang berumur 8 minggu pada saat penelitian dengan berat badan normal yaitu berkisar antara 190-260 gram. Desain penelitian yang dipakai adalah *Randomized Control Group Pretest and Posttest Design*. Variabel bebas yang akan diteliti adalah pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dan 10% dari total kalori. Variabel terikat yang akan diteliti adalah jumlah sel darah putih.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam lemak trans

2.1.1 Struktur kimia asam lemak trans

Asam lemak tidak lain adalah asam alkanoat atau asam karboksilat dengan rumus kimia $R\text{-COOH}$ or $R\text{-CO}_2\text{H}$. Contoh yang cukup sederhana misalnya adalah H-COOH yakni asam format, $\text{H}_3\text{C-COOH}$ yakni asam asetat, $\text{H}_5\text{C}_2\text{-COOH}$ yakni asam propionat, $\text{H}_7\text{C}_3\text{-COOH}$ yakni asam butirat dan seterusnya mengikuti gugus alkil yang mempunyai ikatan valensi tunggal, sehingga membentuk rumus bangun alkana.¹⁵

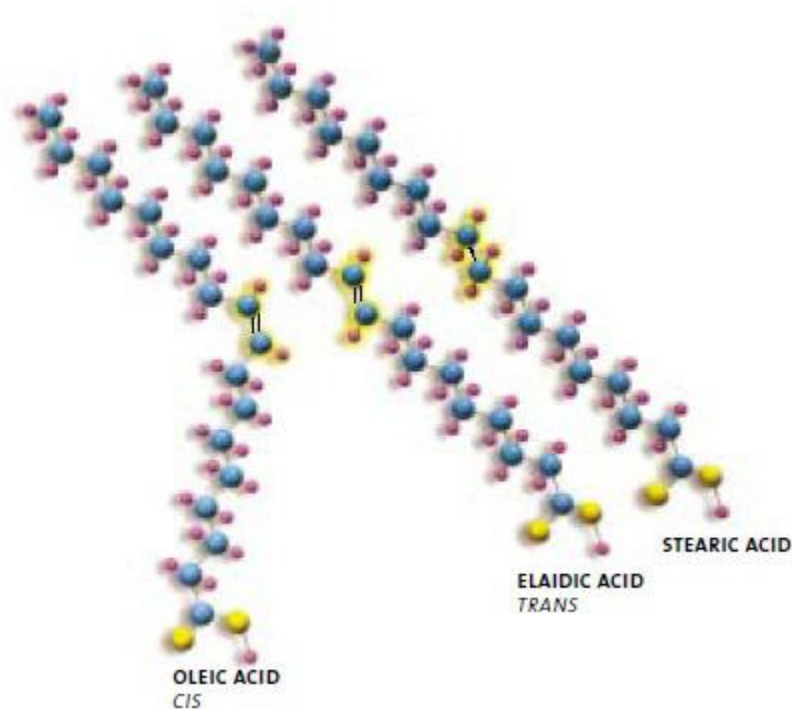
Karena berguna dalam mengenal ciri-cirinya, asam lemak dibedakan menjadi asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh hanya memiliki ikatan tunggal di antara atom-atom karbon penyusunnya, sementara asam lemak tak jenuh memiliki paling sedikit satu ikatan ganda di antara atom-atom karbon penyusunnya.¹⁵

Asam lemak merupakan asam lemah, dan dalam air terdisosiasi sebagian. Umumnya berfase cair atau padat pada suhu ruang (27°C). Semakin panjang rantai karbon penyusunnya, semakin mudah membeku dan juga semakin sukar larut.¹⁵

Asam lemak jenuh bersifat lebih stabil (tidak mudah bereaksi) daripada asam lemak tak jenuh karena ikatan ganda pada asam lemak tak

jenuh lebih mudah bereaksi dengan oksigen sehingga lebih mudah teroksidasi.¹⁵

Keberadaan ikatan ganda pada asam lemak tak jenuh menjadikannya memiliki dua bentuk yakni cis dan trans. Akibat polarisasi atom hidrogen, asam lemak cis memiliki rantai yang melengkung sedangkan pada asam lemak trans karena memiliki atom hidrogen yang berseberangan maka tidak mengalami efek polarisasi yang kuat dan rantainya tetap relatif lurus.¹⁵



Gambar 1. Struktur kimia berbagai macam asam lemak
Sumber: Stender S⁵

Asam lemak trans terbentuk melalui proses hidrogenasi parsial dari asam lemak tak jenuh yang bertujuan untuk meningkatkan stabilitas dan titik lelehnya sehingga dapat menjadi padat atau semi padat pada suhu kamar. Asam lemak trans hasil proses hidrogenasi tersebut misalnya yang

terdapat dalam margarin pada mulanya dianggap lebih menguntungkan karena mempunyai titik leleh yang lebih tinggi daripada bentuk cis (sama dengan titik leleh asam lemak jenuh), lebih stabil, lebih tahan terhadap pengaruh oksidasi dan bentuknya yang setengah padat dapat digunakan sesuai dengan kebutuhan.^{4,5}

2.1.2 Asam lemak trans pada berbagai makanan

Asam lemak trans secara industri terbentuk melalui proses hidrogenasi parsial dari asam lemak tak jenuh. Proses hidrogenasi pada minyak sayur, yang mengandung asam lemak tak jenuh baik tunggal maupun jamak, bertujuan untuk meningkatkan stabilitasnya sehingga tidak mudah rusak dan meningkatkan titik lelehnya sehingga dapat menjadi padat atau semi padat pada suhu kamar.^{3,4}

Hasil dari proses tersebut lalu digunakan untuk membuat makanan olahan misalnya margarin, produk roti (biskuit, *brownies*, *cakes*, donat), makanan kemasan (*snack*), dan makanan cepat saji (*burger*, *french fries*, *pizza*,).^{7,8}

Asam lemak trans juga dapat ditemukan dalam kadar yang rendah pada produk daging dan susu dari hewan ruminansia misalnya sapi, kambing, dan domba. Asam lemak trans ini terbentuk karena terdapat aktivitas mikrobial pada lambung hewan tersebut melalui proses biohidrogenasi. Asam lemak trans yang berasal dari sumber ini apabila dibandingkan dengan asam lemak trans buatan (industri) tidak memiliki

dampak yang signifikan karena terdapat perbedaan struktur dan posisi ikatan rangkap pada struktur kimianya.^{5,6}

2.1.3 Batas asupan harian konsumsi asam lemak trans

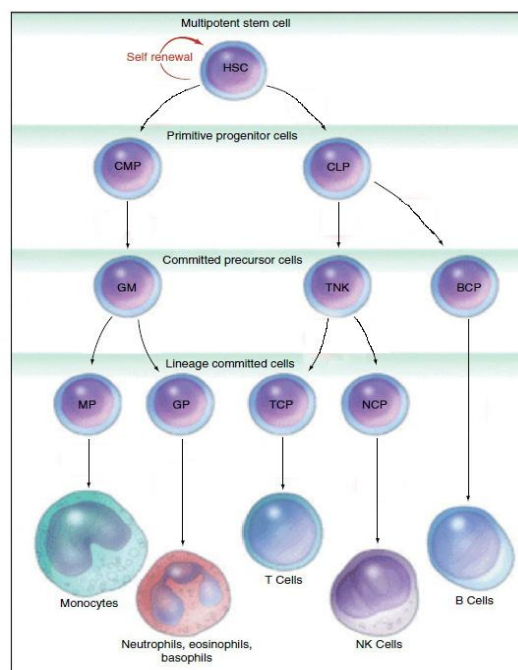
Departemen Pertanian Amerika Serikat (USDA) telah membuat daftar indeks kesehatan makanan yang memuat jumlah batas asupan harian untuk berbagai macam makanan. Akan tetapi USDA tidak memiliki rekomendasi batas asupan harian untuk asam lemak trans. Hal ini disebabkan asam lemak trans terdapat pada makanan yang berbahan dasar daging dari hewan ruminansia secara alamiah. Indeks kesehatan makanan yang dibuat oleh USDA hanya merekomendasikan untuk menjaga asupan harian asam lemak trans seminimal mungkin.¹⁶ Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memberikan batas asupan harian yang dianjurkan yaitu kurang dari 1% kalori dari total asupan kalori harian.¹⁷

2.2 Sel darah putih

2.2.1 Pembentukan sel darah putih

Darah terdiri dari dua bagian yakni sel-sel darah dan plasma darah. Semua sel-sel darah berasal dari satu sel di dalam sumsum tulang yang disebut *multipotent hematopoietic stem cell* (sel HSC). Sel tersebut kemudian akan membentuk jalur-jalur khusus pembelahan sel menjadi suatu sel induk primitif yang pada akhirnya akan terbagi menjadi 3 macam sel darah yakni sel darah merah, sel darah putih dan keping darah.^{1,18}

Sel induk primitif yang akan menjadi sel darah putih terbagi menjadi dua jalur yaitu jalur mielositik melalui sel induk myeloid (sel CMP) dan jalur limfositik melalui sel induk limfoid (sel CLP). Pembagian jalur ini diatur oleh sitokin dan faktor pertumbuhan yang dipengaruhi oleh berbagai rangsang dari luar tubuh. Sel induk primitif kemudian berdiferensiasi menjadi *committed precursor cells* berupa sel induk limfosit T dan sel *natural killer* (sel TNK), sel induk granulosit dan makrofag (sel GM), dan sel induk limfosit B (sel BCP). Pada tingkat selanjutnya, sel TNK akan membelah menjadi sel induk *natural killer* (sel NCP) dan sel induk limfosit T (sel TCP), sel GM akan berdiferensiasi menjadi sel induk granulosit (sel GP) dan sel induk monosit (sel MP), sedangkan sel BCP akan membelah menjadi limfosit B.^{1,18}



Gambar 2. Skema pembentukan sel darah putih

Sumber: Kaushansky K.¹⁸

2.2.2 Macam dan fungsi sel darah putih

Berdasarkan bentuk dan fungsinya, sel darah putih dibedakan menjadi 2 jenis. Sebagai fitur pembeda utama dari jenis tersebut adalah adanya butiran yang disebut granula. Sel darah putih yang bergranula (granulosit) meliputi neutrofil, basofil, dan eosinofil sedangkan yang tidak bergranula (agranulosit) meliputi limfosit, monosit, dan makrofag.^{19,20}

Sel darah putih yang dibentuk di dalam sumsum tulang, disimpan dalam sumsum sampai diperlukan di sistem sirkulasi. Apabila sel darah putih dibutuhkan akan muncul berbagai macam faktor yang dapat menyebabkan sel darah putih tersebut dilepaskan. Sel darah putih yang bersirkulasi dalam darah biasanya berkisar antara 3-4 kali lipat jumlah yang disimpan di dalam sumsum tulang. Jumlah ini sesuai dengan persediaan sel darah putih selama 6 hari.^{1,20}

Masa hidup sel darah putih sangat bervariasi. Granulosit dapat bertahan 4-8 jam dalam sirkulasi darah setelah dilepaskan dari sumsum tulang dan 4-5 hari berikutnya dalam jaringan yang membutuhkan. Pada keadaan infeksi yang berat masa hidup granulosit berkurang sampai hanya beberapa jam, karena granulosit bekerja lebih cepat pada daerah yang terinfeksi, melakukan fungsinya, dan kemudian masuk dalam proses fagositosis.^{1,20}

Monosit juga memiliki waktu bertahan yang singkat yaitu 10-20 jam di dalam sirkulasi darah sebelum menjadi makrofag jaringan. Sel ini

dapat hidup berbulan-bulan apabila sudah menjadi makrofag jaringan, kecuali bila dimusnahkan sewaktu melakukan proses fagositosis.^{1,20}

Limfosit memasuki sistem sirkulasi secara kesinambungan, bersama dengan aliran limfe dari kelenjar limfe dan jaringan limfoid lainnya misalnya lien. Setelah beberapa jam, limfosit keluar dari darah dan kembali ke jaringan dengan cara diapedesis lalu memasuki limfe dan kembali ke darah kembali, demikian seterusnya. Limfosit memiliki masa hidup berminggu-minggu sampai berbulan-bulan bergantung pada kebutuhan tubuh akan sel-sel tersebut.^{1,20}

2.2.3 Leukopenia

Sel darah putih dapat menjalankan fungsinya secara normal apabila jumlahnya dalam batas normal. Keadaan dimana jumlah sel darah putih mengalami penurunan baik keseluruhan jumlah sel darah putih maupun salah satu populasi tertentu dari sel darah putih disebut dengan leukopenia. Leukopenia berdampak pada berkurangnya kemampuan sistem kekebalan tubuh sehingga menjadi faktor predisposisi terhadap infeksi oportunistik hingga infeksi yang dapat mengancam kehidupan misalnya sepsis. Apabila dalam waktu kira-kira satu minggu setelah dimulainya leukopenia total akut belum mendapatkan pengobatan yang adekuat, penderita dapat mengalami kematian.^{1,21}

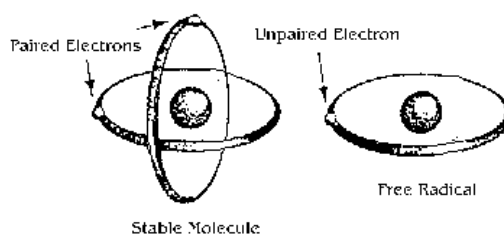
2.3 Radikal bebas

2.3.1 Definisi radikal bebas

Radikal bebas adalah atom maupun molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Konsekuensi berupa kecenderungannya memperoleh elektron dari substansi lain menjadikan radikal bebas sangat reaktif.²²⁻²⁴

2.3.2 Sifat radikal bebas

Radikal bebas bersifat sangat reaktif. Radikal bebas mempunyai spesifisitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan DNA. Dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas akan menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektronnya. Molekul yang terambil elektronnya tersebut juga akan menjadi radikal bebas sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi peningkatan radikal bebas. Karena bersifat sangat reaktif, radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan ini dapat terjadi pada berbagai sel tubuh, termasuk pada limfosit.^{23,24}



Gambar 3. Struktur kimia radikal bebas

Sumber: Proctor²⁴

2.3.3 Macam radikal bebas dalam tubuh

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*/ROS), termasuk di dalamnya adalah triplet ($3O_2$), tunggal (singlet/ $1O_2$), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^\cdot), nitrit oksida (NO^\cdot), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorus ($HOCl$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxyl (LO^\cdot), dan radikal peroksil (LO_2^\cdot). Radikal bebas yang mengandung karbon (CCL_3^\cdot) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H (H^\cdot). Bentuk yang lainnya adalah radikal mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutathione menghasilkan radikal thiol ($R^\cdot S^-$).^{22,25}

2.3.4 Reaksi perusakan oleh radikal bebas

Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif *intermediate* (ROI) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas.^{23,24}

2.3.4.1 Peroksidasi lemak

Membran sel kaya akan sumber asam lemak tak jenuh jamak yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi. Proses ini dinamakan peroksidasi lemak. Hal ini sangat merusak karena

merupakan suatu proses berkelanjutan. Pemecahan hidroperoksida lemak sering melibatkan katalisis ion logam transisi.^{23,24}

2.3.4.2 Kerusakan protein

Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang, kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi hanya jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein. Salah satu penyebab kerusakan terfokus adalah jika protein berikatan dengan ion logam transisi.^{23,24}

2.3.4.3 Kerusakan DNA

Seperti pada protein kecil kemungkinan terjadinya kerusakan di DNA menjadi suatu reaksi berantai, biasanya kerusakan terjadi bila ada lesi pada susunan molekul, apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk di sekitar DNA.^{26,27}

2.3.5 Sumber oksigen reaktif

Enzim sitokrom oksidase pada keadaan normal membutuhkan 4 buah elektron (e^-) untuk mengkatalisasi reduksi O_2 menjadi H_2O_2 dalam rantai pernafasan. Namun pada 5% total konsumsi oksigen terjadi proses yang tidak seperti biasanya yaitu hanya sebuah elektron yang diambil

untuk mengkatalisasi proses tersebut. Hal ini disebut dengan reduksi univalen yang dapat menyebabkan terbentuknya spesies oksigen yang toksik.^{22,28}

Oksigen (O_2) terbentuk karena terdapat penambahan satu elektron pertama. Reaktivitas ini pada pH fisiologis dibatasi oleh adanya dismutasi spontan yaitu suatu keadaan dimana akan terbentuk hidrogen peroksida atau H_2O_2 setelah penambahan elektron yang kedua. H_2O_2 merupakan oksidan yang kuat, akan tetapi apabila bereaksi dengan substrat yang bersifat organik akan bereaksi dengan lambat. Apabila kadar H_2O_2 dalam sirkulasi darah sangat tinggi maka keadaan ini dianggap toksik oleh tubuh. Akumulasi H_2O_2 dalam tubuh dapat berbahaya apabila didapati bersama-sama dengan ion Fe^{2+} atau *chelating agent* lainnya. Hal ini dikarenakan akan terbentuk radikal hidroksil (OH^\cdot) setelah menerima elektron ketiga.²⁸

2.4 Pengaruh asam lemak trans pada sel darah putih

2.4.1 Asam lemak trans dan inflamasi

Asam lemak trans memodulasi terjadinya inflamasi sistemik pada membran sel endotel melalui jalur spesifik dan jalur *signaling* fosfolipid membran makrofag.²⁹ Efek proinflamatori yang ditimbulkan oleh asupan asam lemak trans dapat merusak sel blas pada sumsum tulang sehingga menyebabkan terjadinya supresi sumsum tulang.¹⁰ Cedera endotel yang diakibatkan oleh asam lemak trans akan meningkatkan perlekatan sel darah putih dan platelet pada endotel, permeabilitas endotel, produksi

sitokin, perubahan antikoagulan menjadi prokoagulan, dan vasodilator menjadi vasokonstriktor.³⁰

Faktor yang memiliki kontribusi besar terhadap cedera endotel adalah kolesterol LDL. Retensi kolesterol LDL di subendotel akan menghasilkan proses oksidasi dan selanjutnya internalisasi oleh makrofag melalui reseptor *scavenger*. Internalisasi kolesterol LDL oleh makrofag akan merangsang pembentukan lipid peroksidase dan akumulasi kolesterol ester di dalam makrofag. Kolesterol LDL termodifikasi juga merupakan kemotaktik bagi monosit lain dan dapat meningkatkan ekspresi gen dari *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF) dan *monocyte chemotactic protein* (MCP) pada sel endotel. Kedua mediator, baik MCSF maupun MCP akan meningkatkan replikasi monosit menjadi makrofag dan menarik monosit baru ke dalam lesi.³⁰

2.4.2 Asam lemak trans menyebabkan *respiratory burst* yang berlebihan

Masuknya asam lemak trans yang berlebihan ke dalam tubuh akan merangsang aktivitas fagositik sel-sel fagosit (neutrofil, eosinofil, makrofag) sehingga terjadi *respiratory burst* secara cepat yang diikuti terbentuknya radikal bebas yang banyak. *Respiratory burst* ini terjadi pada saat sel darah putih memfagosit mikroorganisme maupun benda asing yang merupakan refleksi utilisasi oksigen yang sangat meningkat disertai produksi sejumlah besar derivat reaktif, yaitu O_2^- , H_2O_2 , OH dan OCl^- . Sebagian derivat ini merupakan mikrobisidal yang poten. Sistem rantai

transpor elektron yang bertanggung jawab terhadap *respiratory burst* ini memiliki komponen-komponen antara lain²²

- 1) NADPH oksidase (NADPH O₂-oksidoreduktase)
- 2) Sitokrom tipe B yang mampu mereduksi oksigen menjadi superoksida.

Karena pengaruh NADPH oksidase dan sitokrom tersebut, maka oksigen direduksi menjadi superoksida. Kemudian superoksida secara spontan dengan bantuan enzim superoksida dismutase diubah menjadi H₂O₂. Superoksida yang terbentuk disalurkan ke luar sel atau ke dalam fagolisosom. Di dalam fagolisosom, benda asing dibunuh oleh adanya aksi kombinasi dan pH yang meninggi, ion superoksida, derivat oksigen lain, peptida/ protein lain yang bersifat bakterisid.^{27,31}

Hasil metabolit asam lemak trans yang terus menerus dapat menyebabkan *respiratory burst* yang berlebihan hingga pada akhirnya tubuh akan kehabisan leukosit dan kelebihan radikal bebas. Hal ini ditandai dengan terjadinya leukopenia yang dapat menyebabkan infeksi rekuren/ infeksi berulang sampai sepsis.^{27,31}

2.4.3 Asam lemak trans menyebabkan stres oksidatif sel darah putih

Metabolisme asam lemak trans di dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif. Hasil metabolisme asam lemak trans memicu pengeluaran mediator inflamasi terutama sitokin IL-6, IL-1 dan TNF- α . Mediator inflamasi tersebut berperan penting dalam menginduksi kegagalan

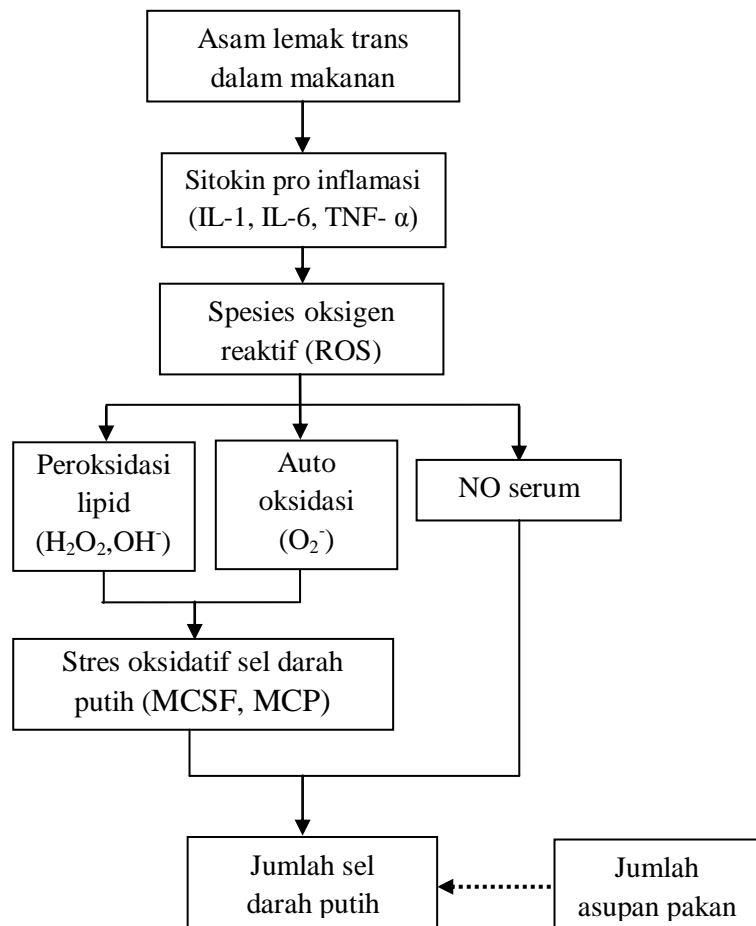
fungsi endotel, peningkatan oksidasi lipid, dan menurunkan aktivitas aktivator jaringan plasminogen.^{32,33}

Patofisiologi stres oksidatif yang paling berperan adalah dapat merusak sel sehingga menyebabkan disfungsi endotel. ROS berperan penting pada keadaan fisiologis maupun patologis vaskuler. ROS secara intraseluler diproduksi dalam jumlah sedikit dan bekerja sebagai *second messenger* yaitu modulator jalur biokimia untuk memediasi berbagai respons seperti pertumbuhan sel-sel otot polos pembuluh darah. Akan tetapi apabila ROS diproduksi dalam jumlah besar maka ROS dapat merusak DNA sel, bersifat toksik, dan dapat menyebabkan apoptosis sel melalui aktivasi *Nitric Oxide* (NO) termasuk sel darah putih yang berada di dalam pembuluh darah.³⁴

BAB 3

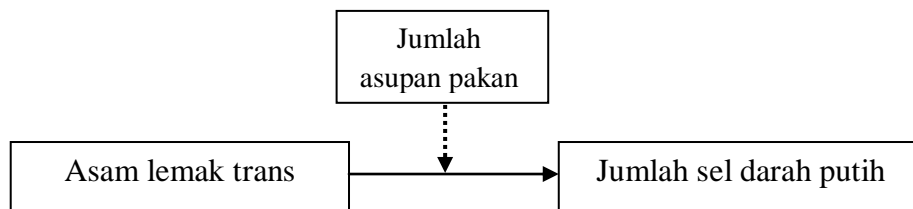
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka konsep

3.3 Hipotesis

3.3.1 Hipotesis Mayor

Terjadi penurunan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley pada mendapatkan pemberian asam lemak trans.

3.3.2 Hipotesis Minor

- 1) Terjadi penurunan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5%.
- 2) Terjadi penurunan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10%.
- 3) Selisih jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori lebih rendah daripada yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans.
- 4) Selisih jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori lebih rendah daripada yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans.
- 5) Selisih jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori lebih rendah daripada yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori.

BAB 4

METODE PELAKSANAAN

4.1 Ruang lingkup penelitian

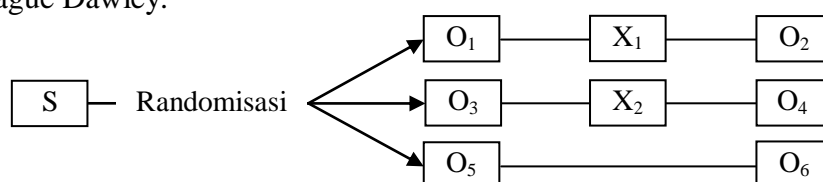
Ruang lingkup keilmuan penelitian ini adalah ilmu biokimia dan ilmu gizi.

4.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang selama 4 bulan yang dimulai dari bulan Februari hingga bulan Mei 2012.

4.3 Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan desain *Randomized Control Group Pretest and Posttest Design* pada hewan coba tikus Sprague Dawley.



Gambar 6. Skema desain penelitian

Keterangan:

S = Sampel Penelitian

O₁ = Pretest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5%

O₂ = Posttest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5%

O₃ = Pretest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 10%

O₄ = Posttest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 10%

O₅ = Pretest untuk kelompok kontrol tanpa pemberian asam lemak trans

O₆ = Posttest untuk kelompok kontrol tanpa pemberian asam lemak trans

X₁ = Perlakuan 1 berupa pemberian asam lemak trans 5%

X₂ = Perlakuan 2 berupa pemberian asam lemak trans 10%

4.4 Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah Tikus Sprague Dawley yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian.

4.4.1 Kriteria inklusi

- 1) Tikus Sprague Dawley jantan
- 2) Berat badan tikus normal (190-260 gram)
- 3) Umur 7 minggu sebelum dilakukan adaptasi
- 4) Pada pengamatan visual tikus tampak sehat, aktif bergerak, dan tidak terdapat kelainan anatomis

4.4.2 Kriteria eksklusi

Mengalami perubahan berat badan $> 10\%$ selama adaptasi.

4.4.3 Kriteria *drop out*

- 1) Tikus tampak sakit selama masa penelitian
- 2) Mengalami diare selama masa penelitian
- 3) Mengalami kematian

4.4.4 Cara sampling

Sampel didapatkan dengan cara *simple random sampling*.

4.4.5 Besar sampel

Penelitian dilakukan kepada 3 (tiga) kelompok tikus Sprague Dawley yang terdiri dari:

- 1) Kelompok 1 yaitu kelompok perlakuan 1, diberi pakan berupa pelet sebanyak 20 gram/ hari dengan kadar asam lemak trans 5% dari total kalori

- 2) Kelompok 2 yaitu kelompok perlakuan 2, diberi pakan berupa pelet sebanyak 20 gram/ hari dengan kadar asam lemak trans 10% dari total kalori
- 3) Kelompok 3 yaitu kelompok kontrol, diberi pakan berupa pelet sebanyak 20 gram/ hari tanpa kandungan asam lemak trans.

Masing-masing kelompok terdiri dari 11 ekor tikus sehingga didapatkan total sampel sebesar 33 ekor. Perhitungan jumlah sampel ini mengacu pada penelitian sebelumnya¹¹ dan pedoman WHO mengenai penelitian eksperimental menggunakan hewan coba yaitu jumlah setiap kelompok minimal 5 ekor dan menyertakan kelompok kontrol.³⁵

4.5 Variabel penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Pemberian asam lemak trans, dengan:

- 1) Kadar 5% dari total kalori
- 2) Kadar 10% dari total kalori

4.5.2 Variabel terikat

Jumlah sel darah putih.

4.6 Definisi operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Pemberian asam lemak trans Asam lemak trans dengan kadar 5% dan 10% dari total kalori yang diberikan selama 8 minggu melalui pelet tikus sebanyak 20 gram per hari	gram	Ordinal

Tabel 2. Definisi operasional (lanjutan)

No.	Variabel	Unit	Skala
2.	Jumlah sel darah putih Jumlah sel darah putih tikus tiap μl (mikroliter) darah yang dihitung berdasarkan metoda baku hematologi dengan menggunakan alat penghitung darah otomatis <i>hematology Zenix 244 full autoanalyzer</i> dan reagen hematologi <i>Melet Schloesing</i>	sel/ μl	Rasio

4.7 Cara pengumpulan data

4.7.1 Bahan

- 1) Tikus Sprague Dawley jantan
- 2) Pakan standar tanpa kandungan asam lemak trans
- 3) Pelet tikus dengan kadar asam lemak trans 5% dari total kalori dengan kode D11102101
- 4) Pelet tikus dengan kadar asam lemak trans 10% dari total kalori dengan kode D11102102

Besar kalori antara pakan standar dengan pelet yang diteliti telah diukur secara Bom kalorimetri di Laboratorium Pusat Antar Universitas bidang Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan dinyatakan isokalorik.

4.7.2 Alat

- 1) Kandang tikus individual, ukuran panjang 15 cm; lebar 30 cm; tinggi 13 cm
- 2) Spuit atau *disposable syringe* volume 3 ml
- 3) Tabung reaksi kecil (10 x 75 mm)

- 4) Larutan Disodium etilendiamintetraasetat (EDTA) 50 ml
- 5) Reagen hematologi *Melet Schloesing*
- 6) Alat penghitung jumlah sel darah otomatis *hematology Zenix 244 full autoanalyzer*

4.7.3 Jenis data

Data yang dikumpulkan, yaitu jumlah sel darah putih tiap mm³ darah tikus, merupakan data primer karena didapatkan secara langsung oleh peneliti.

4.7.4 Cara kerja

4.7.4.1 Pemberian asam lemak trans

- 1) Kelompok 1 diberi pakan berupa pelet dengan kadar asam lemak trans 5% dari total kalori
- 2) Kelompok 2 diberi pakan berupa pelet dengan kadar asam lemak trans 10% dari total kalori
- 3) Kelompok 3 diberi pakan berupa pelet tanpa asam lemak trans

4.7.4.2 Perawatan hewan coba

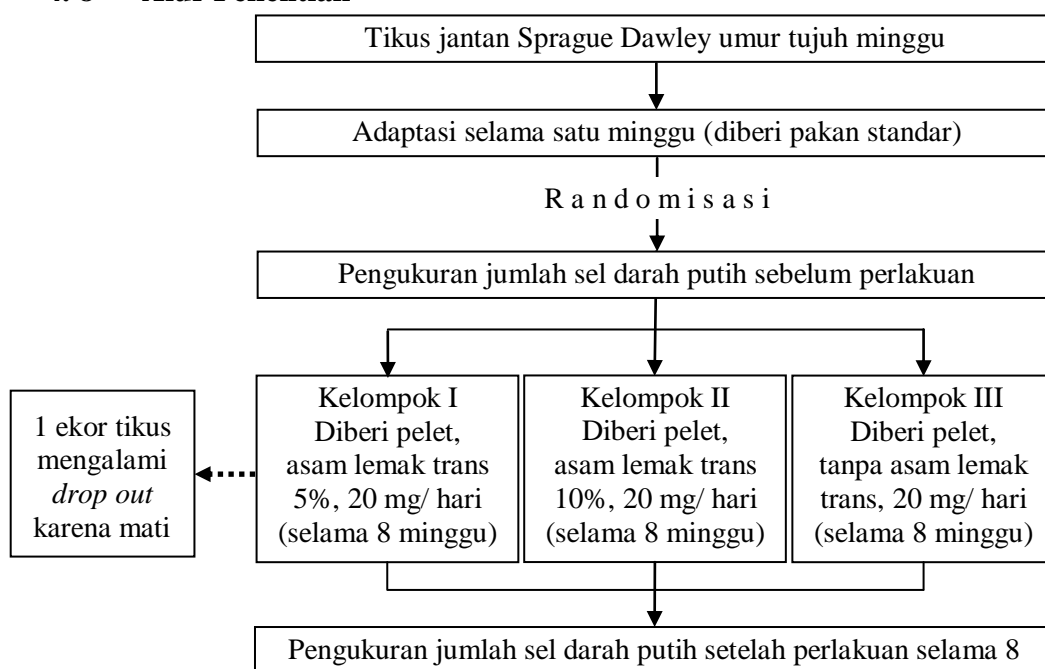
- 1) Tikus Sprague Dawley jantan yang berumur 7 minggu ditempatkan dalam kandang individual pada ruangan yang memiliki ventilasi yang baik dan mendapatkan penerangan yang memadai (12:12 jam siklus gelap-terang)
- 2) Suhu ruangan cukup hangat yang berkisar antara 26-32°C dengan kelembaban relatif 50-60%
- 3) Kandang dibersihkan setiap pagi dan sore hari

- 4) Makanan berupa pelet diberikan sesuai kelompoknya dan diberikan minum berupa air secara *ad libitum* setiap hari

4.7.4.3 Pengukuran sel darah putih

- 1) Sampel diambil melalui anyaman vena di belakang mata/plexus vena retroorbital dengan spuit volume 3 ml.
- 2) Sampel yang berupa *whole blood* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan EDTA 1 ml dan dicampur dengan reagen hematologi *Melet Schloesing*.
- 3) Sampel kemudian diukur menggunakan alat penghitung jumlah sel darah otomatis *hematology Zenix 244 full autoanalyzer*. Perhitungan jumlah sel darah putih dilakukan oleh laboratorium klinik Prodia.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

4.9 Analisis data

Peneliti melakukan uji normalitas data terhadap data primer yang didapatkan dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data. Data dianggap berdistribusi normal apabila nilai p tidak bermakna ($p > 0,05$)

Untuk mengetahui perbedaan jumlah sel darah putih sebelum dan sesudah perlakuan tiap-tiap kelompok yaitu kelompok dengan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5%, kelompok dengan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10%, dan kelompok tanpa pemberian asam lemak trans dilakukan:

- 1) uji *paired t-test* kepada data yang berdistribusi normal, dan
- 2) uji Wilcoxon kepada data yang berdistribusi tidak normal.

Untuk mengetahui perbedaan selisih jumlah sel darah putih sebelum dan sesudah perlakuan antar kelompok yaitu antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% terhadap kelompok tanpa pemberian asam lemak trans, antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% terhadap kelompok tanpa pemberian asam lemak trans, dan antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% terhadap kelompok dengan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dilakukan uji *independent t-test* karena data berdistribusi normal.

Nilai derajat kemaknaan adalah apabila didapatkan nilai p yang bermakna ($p \leq 0,05$) dengan interval kepercayaan sebesar 95%. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer.

4.10 Etika penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan, penelitian akan dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang

Setelah penelitian dilaksanakan, hewan coba akan diberikan kepada pihak LPPT UGM Yogyakarta untuk dipelihara dan atau digunakan kembali apabila dibutuhkan dan memenuhi kriteria penelitian yang telah ditentukan.

4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal penelitian

	November	Desember	Januari	Februari	Maret	April	Mei	Juni
Pembuatan proposal penelitian								
Pemesanan pelet tikus dari <i>Research Diets, Inc, New Jersey USA</i>								
Persiapan alat dan bahan penelitian, serta koordinasi dengan laboratorium LPPT UGM								
Randomisasi kelompok sesuai kriteria inklusi dan eksklusi								
Adaptasi tikus dengan pemberian pakan standar								
Pengukuran jumlah sel darah sebelum intervensi (pretest)								
Intervensi terhadap kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2, serta kelompok kontrol								
Pengukuran jumlah sel darah setelah intervensi (posttest)								
Rekapitulasi data dan pembuatan laporan								

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari hingga Mei 2012 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan untuk pengukuran sel darah putih dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia Yogyakarta. Jumlah tikus yang digunakan pada awal penelitian adalah sebanyak 11 ekor setiap kelompoknya. Akan tetapi pada perjalanannya ada 1 ekor tikus yang mati dan ada beberapa sampel darah yang mengalami penjendalan selama transportasi sehingga didapatkan data sejumlah 7 ekor setiap kelompoknya.

5.1. Berat badan hewan coba

Berat badan hewan coba (dalam gram) sebelum dan sesudah penelitian ditampilkan pada tabel 4.

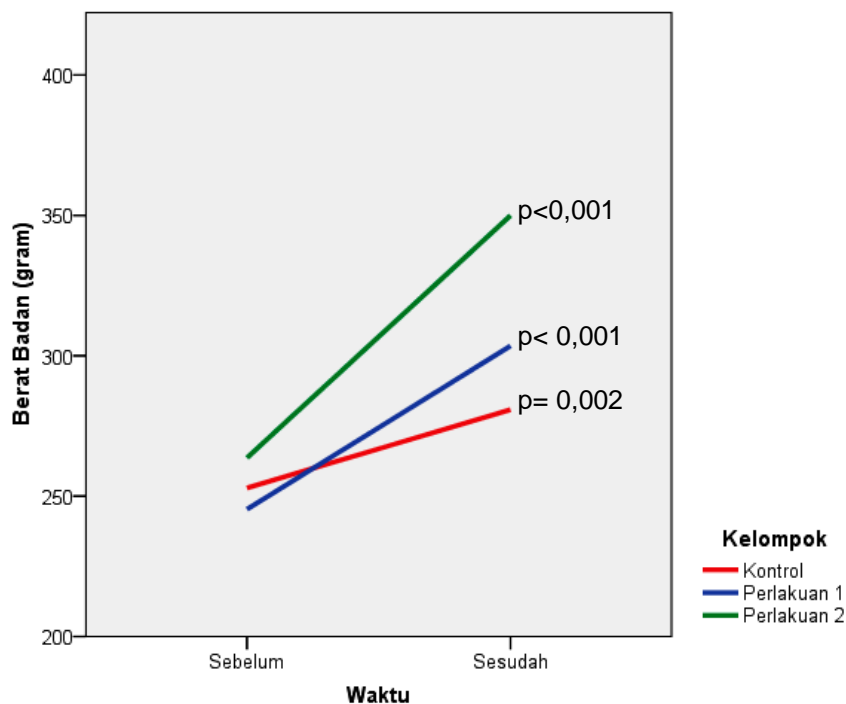
Tabel 4. Berat badan hewan coba

Kelompok	Berat badan (gram)		p*
	Sebelum Rerata \pm SB	Sesudah Rerata \pm SB	
Kontrol (K)	252,9 \pm 20,05	280,8 \pm 28,31	0,002
Perlakuan 1 (P1)	245,3 \pm 22,84	303,5 \pm 23,42	<0,001
Perlakuan 2 (P2)	263,7 \pm 17,73	349,9 \pm 14,84	<0,001

* uji *paired t-test*: sebelum -- sesudah perlakuan

Dapat dilihat pada tabel 4, berat badan pada seluruh kelompok penelitian meningkat secara bermakna. Pada kelompok kontrol terjadi peningkatan berat badan sebesar 27,9 \pm 13,49 gram ($p=0,002$), kelompok perlakuan 1 sebesar

58,2±17,41 gram ($p<0,001$) dan kelompok perlakuan 2 sebesar 86,3±11,49 gram ($p<0,001$). Distribusi data peningkatan berat badan pada masing-masing kelompok penelitian tersebut juga ditampilkan pada gambar 8.



Gambar 8. Berat badan hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian

Pada gambar 8 terlihat adanya peningkatan yang bermakna dari berat badan hewan coba pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2.

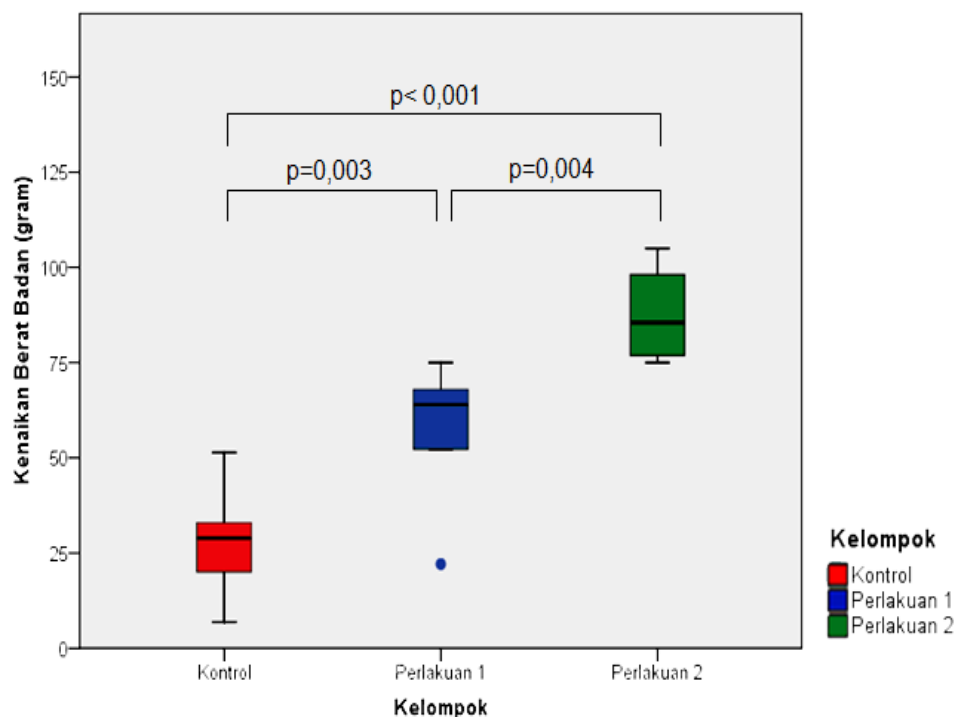
Tabel 5. Uji beda selisih berat badan hewan coba antar kelompok

Kelompok	Kontrol (K)	Perlakuan 1 (P1)	Perlakuan 2 (P2)	Selisih Berat Badan Rerata ± SB
Kontrol (K)	-	0,003	<0,001	27,9±13,49
Perlakuan 1 (P1)	0,003	-	0,004	58,2±17,41
Perlakuan 2 (P2)	<0,001	0,004	-	86,3±11,49

* uji *independent t-test*

Data selisih berat badan hewan coba pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel 5. Pada tabel 5 terlihat selisih peningkatan berat badan

yang terbesar didapatkan pada kelompok perlakuan 2, kemudian kelompok perlakuan 1 dan terkecil pada kelompok kontrol. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada selisih berat badan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,003$). Selisih berat badan antara kelompok kontrol dengan perlakuan 2 juga menunjukkan hasil yang bermakna ($p<0,001$). Begitu pula pada selisih berat badan antara kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2 ($p=0,004$). Distribusi data perbedaan selisih berat badan pada masing-masing kelompok penelitian tersebut juga ditampilkan pada gambar 9.



Gambar 9. Selisih berat badan pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2

5.2. Jumlah sel darah putih hewan coba

Jumlah sel darah putih hewan coba (dalam $\times 10^3$ sel/ mm^3) sebelum dan sesudah penelitian ditampilkan pada tabel 6.

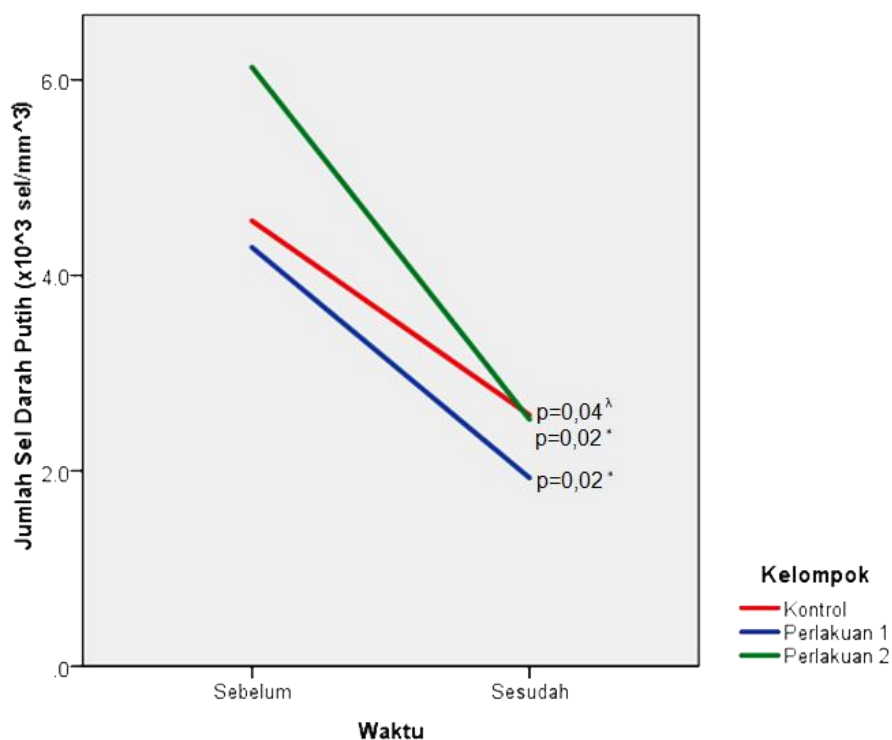
Tabel 6. Jumlah sel darah putih hewan coba (dalam $\times 10^3$ sel/ mm³)

Kelompok	Jumlah sel darah putih (dalam $\times 10^3$ sel/ mm ³)		p
	Sebelum Rerata \pm SB	Sesudah Rerata \pm SB	
Kontrol (K)	4,6 \pm 1,45	2,6 \pm 0,92	0,02*
Perlakuan 1 (P1)	4,3 \pm 0,94	2,0 \pm 1,20	0,02*
Perlakuan 2 (P2)	6,1 \pm 3,55	2,5 \pm 0,92	0,04 ^λ

*uji Wilcoxon: sebelum -- sesudah perlakuan

^λ uji *paired t-test*: sebelum -- sesudah perlakuan

Dapat dilihat pada tabel 6, jumlah sel darah putih pada seluruh kelompok penelitian mengalami penurunan secara bermakna. Pada kelompok kontrol terjadi penurunan jumlah sel darah putih sebanyak $-2,0 \pm 1,26 \times 10^3$ sel/ mm³ ($p=0,02$), kelompok P1 sebanyak $-2,4 \pm 1,29 \times 10^3$ sel/ mm³ ($p=0,02$), dan kelompok P2 sebanyak $-3,1 \pm 3,88 \times 10^3$ sel/ mm³ ($p=0,04$). Distribusi data penurunan jumlah sel darah putih pada masing-masing kelompok penelitian tersebut juga ditampilkan pada gambar 10.



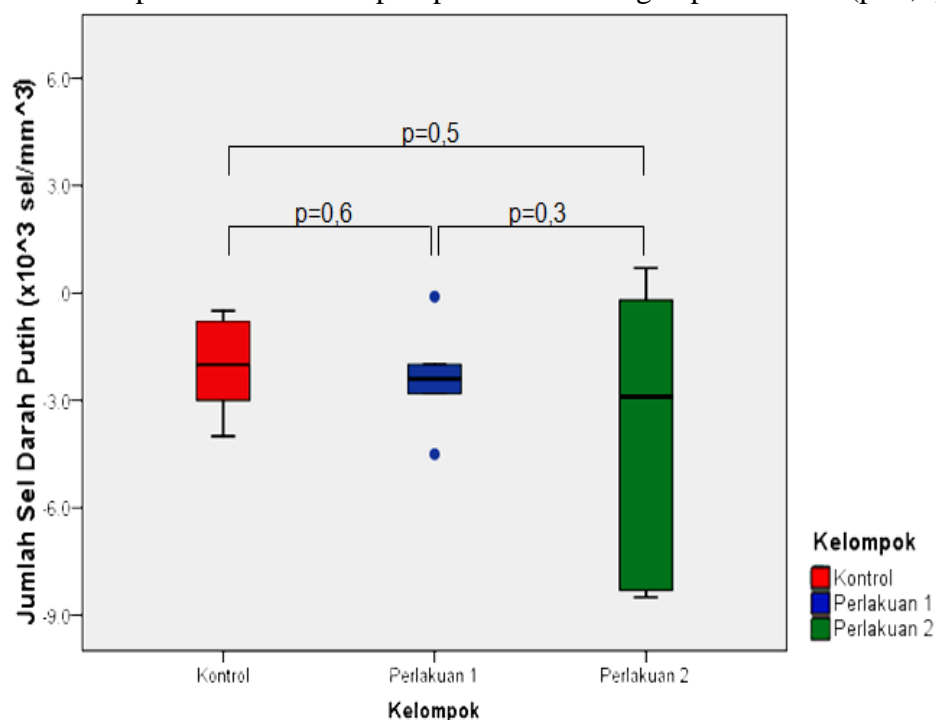
Gambar 10. Jumlah sel darah putih hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian

Tabel 7. Uji beda selisih sel darah putih hewan coba antar kelompok

Kelompok	Kontrol (K)	Perlakuan 1 (P1)	Perlakuan 2 (P2)	Selisih Berat Badan Rerata \pm SB
Kontrol (K)	-	0,6	0,5	-2,0 \pm 1,26
Perlakuan 1 (P1)	0,6	-	0,3	-2,4 \pm 1,29
Perlakuan 2 (P2)	0,5	0,3	-	-3,6 \pm 3,60

* uji *independent t-test*

Data selisih jumlah sel darah putih hewan coba pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel 7 dan gambar 11. Pada tabel 7 terlihat selisih penurunan jumlah sel darah putih berturut-turut yang terbesar didapatkan pada kelompok perlakuan 2, kelompok perlakuan 1 dan kelompok kontrol. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan akan tetapi tidak bermakna pada selisih jumlah sel darah putih antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,6$). Selisih jumlah sel darah putih antara kelompok kontrol dengan perlakuan 2 juga menunjukkan hasil yang tidak bermakna ($p=0,5$). Begitu pula pada selisih jumlah sel darah putih antara kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2 ($p=0,3$).

**Gambar 11.** Selisih jumlah sel darah putih pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan yang bermakna secara statistik pada berat badan hewan coba masing-masing kelompok. Begitu juga pada perbedaan selisih berat badan hewan coba antara masing-masing kelompok. Hal ini dapat dikarenakan bahwa asupan asam lemak trans dalam kadar yang tinggi dapat meningkatkan berat badan tubuh akibat peningkatan rasio kolesterol total/HDL atau rasio LDL/HDL dalam darah jika dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa asupan asam lemak trans dalam kadar yang tinggi dapat merangsang peningkatan deposisi lemak *visceral* tubuh, peningkatan deposisi lemak hati dan resistensi insulin yang merupakan biomarker dari obesitas atau kegemukan.^{12, 13}

Penelitian yang dilaksanakan oleh Dorfman SE, *et al.* pada tahun 2009¹³ telah mencari dampak metabolik dari asupan asam lemak trans. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa ada hubungan yang bermakna antara pemberian asupan asam lemak trans dengan peningkatan berat badan hewan coba. Kesimpulan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini dengan demikian dapat menjadi salah satu alasan terjadinya peningkatan berat badan hewan coba.

Berdasarkan hasil penelitian ini, terjadi penurunan yang bermakna dari jumlah sel darah putih hewan coba sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok. Akan tetapi, dapat pula diketahui bahwa pemberian asam lemak trans 5% dan 10% belum dapat menunjukkan perbedaan yang bermakna untuk data selisih jumlah sel darah putih antar kelompok. Dengan demikian, hasil

penelitian ini belum dapat menjawab hipotesis yang diajukan bahwa pemberian tinggi asam lemak trans dapat menurunkan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh GE Egbung, *et al.*¹⁰ dimana terjadi penurunan jumlah sel darah putih yang bermakna secara statistik pada kelompok yang diberi asam lemak trans. Terdapat beberapa faktor yang mungkin dapat menjelaskan hal tersebut. Pertama, dosis pemberian asam lemak trans pada penelitian ini adalah sebesar 5% dan 10% dari total kalori. Kadar ini lebih kecil dari dosis penelitian sebelumnya yaitu sebesar 15% dan 25% dari total kalori. Kedua, penelitian ini menggunakan tikus Sprague Dawley dengan berat berkisar antara 190-260 gram. Tikus ini merupakan varian tikus yang lebih besar apabila dibandingkan dengan tikus yang digunakan pada penelitian sebelumnya yaitu tikus wistar albino yang memiliki berat berkisar antara 70-140 gram. Ketiga, metoda yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan membandingkan jumlah sel darah putih sesudah perlakuan dengan sebelum perlakuan pada tiap kelompok serta membandingkan selisih jumlah sel darah putih antara sesudah dengan sebelum perlakuan antar kelompok sedangkan pada penelitian sebelumnya metoda yang digunakan adalah *Post test only design* yang hanya dengan membandingkan jumlah sel darah putih sesudah perlakuan antara tiap-tiap kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak terpenuhinya jumlah asupan pakan yang telah ditentukan yakni sebesar 20 gram per hari. Hal ini disebabkan tidak dilakukannya pemaksaan, misalnya dengan menyondekan pakan ke lambung

tikus, karena pakan yang digunakan mengandung asam lemak trans yang tidak dapat larut di dalam air. Selain itu, dosis asam lemak trans yang kecil kemungkinan akan membutuhkan waktu dan proses yang lebih lama untuk dapat menurunkan jumlah sel darah putih. Hal ini dikarenakan stres oksidatif pada tubuh yang terjadi akibat respon inflamasi sistemik oleh asupan asam lemak trans yang tinggi merupakan proses yang kronik sehingga membutuhkan jangka waktu yang lama.⁸⁻¹⁰

Penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan untuk meneliti kadar asam lemak trans yang efektif dan periode waktu perlakuan yang efektif untuk dapat menurunkan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley secara bermakna.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

- 1) Pemberian asam lemak trans 5% selama 8 minggu dapat menurunkan jumlah sel darah putih Sprague Dawley.
- 2) Pemberian asam lemak trans 10% selama 8 minggu dapat menurunkan jumlah sel darah putih Sprague Dawley.
- 3) Selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori lebih rendah dibandingkan dengan selisih jumlah sel darah putih yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans akan tetapi perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik.
- 4) Selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori lebih rendah dibandingkan dengan selisih jumlah sel darah putih yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans akan tetapi perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik.
- 5) Selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 10% dari total kalori lebih rendah dibandingkan dengan selisih jumlah sel darah putih pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans dengan kadar 5% dari total kalori

7.2 Saran

- 1) Dibutuhkan pemberian kadar asam lemak trans yang lebih besar untuk dapat menurunkan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang bermakna.
- 2) Dibutuhkan periode waktu perlakuan yang lebih lama untuk dapat menurunkan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley yang bermakna.
- 3) Asupan pakan yang diberikan harus diusahakan sama pada masing-masing kelompok sehingga pengaruh pemberian asam lemak trans lebih nyata.
- 4) Penelitian ini diharapkan untuk dapat dikembangkan lebih lanjut lagi sehingga nilai minimal dari kadar asam lemak trans dan periode waktu perlakuan untuk dapat menurunkan jumlah sel darah putih tikus Sprague Dawley secara bermakna dapat diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

1. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Trans Irawati, Jakarta: EGC; 2007.
2. Sartika RAD. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh, dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional [Internet]. 2008 [cited 2011 Sept 16]; 2 (4): 154-60.
3. Mauger JF, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jalbert SM, Jauhiainen M, Ehnholm C, et al. Effect of different forms of dietary hydrogenated fats on LDL particle size. Am J Clin Nutr [Internet]. 2003 [cited 2011 Sept 16]; 78: 370-5.
4. The Trans Fat Task Force. TRANSforming the food supply-Report of the Trans Fat Task Force. Ottawa (Canada): Health Department of Canada; 2006.
5. Stender S, Dyerberg J. The Influence of Trans Fatty Acids on Health. 4th ed. Copenhagen (Denmark): The Danish Nutrition Council; 2003.
6. Fenney MJ. Defining Differences in Trans Fatty Acids. California: Dairy Council of California. 2008; 2 (5): 1-3.
7. Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease. N Engl J Med [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 16]; 354 (15): 1601-13.
8. Mozaffarian D, Aro A, Willett WC. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. Eur J Clin Nutr [Internet]. 2009 [cited 2011 Sept 16]; 63 (Suppl 2): S5-21.
9. Kris-Etherton PM, Innis S. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: Dietary Fatty Acids. J Am Diet Assoc [Internet]. 2007 [cited 2011 Sept 16]; 107:1599-1611.
10. Egbung GE, Essien EU, Atangwho IJ. Effect of Trans Fatty Acids Consumption on Some Haematological Indices in Albino Wistar Rats. Pak J Nutr [Internet]. 2009 [cited 2011 Sept 10]; 8 (8): 1258-61.
11. Hunter JE. Dietary trans fatty acids: review of recent human studies and food industry responses. Lipids [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 10]; 41: 967-92.





12. Odegaard AO, Pereira MA. Trans Fatty Acids, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes. *Nutr Rev* [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 10]; 64 (8): 364-72.
13. Dorfman SE, Laurent D, Gounarides JS, Li X, Mullarkey TL, Rocheford EC, et al. . Metabolic implications of dietary trans-fatty Acids. *Obesity* [Internet]. 2009 [cited 2011 Sept 16]; 17 (6): 1200–7.
14. Pandovese R, Curi R. Modulation of rat neutrophil function in vitro by cis- and trans-MUFA. *Br J Nutr* [Internet]. 2009 [cited 2011 Sept 15]; 101: 1351–59.
15. Sumardjo D. Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran. Jakarta: EGC; 2008.
16. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM, Reeve BB, Basiotis PP. Development and Evaluation of the Healthy Eating Index-2005: Technical Report. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture; 2007.
17. Scientific Advisory Committee on Nutrition. Update on trans fatty acids and health. London: Scientific Advisory Committee on Nutrition; 2007.
18. Kaushansky K. Lineage - specific hematopoietic growth factors. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 16]; 354: 2034 – 45.
19. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 3rd ed. Philadelphia (USA): Saunders Elsevier; 2007.
20. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. Essential Haematology. 4th ed. Trans Mahanani DA. Jakarta: EGC; 2005.
21. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi V. Jakarta: Interna Publishing; 2006.
22. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 25th ed. Trans Hartono A. Jakarta: EGC; 2005.
23. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82: 47-95.
24. Proctor PH, Reynolds ES. Free Radicals and Disease in Man. *Physiol Chem Phys Med*. 1984; 16: 175-95.
25. Araujo V, Arnal C, Boronat M, Ruiz E, Dominguez C. Oxidant-anti oxidant imbalance in blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Bio Factor*. 1998; 8:155-9.

26. Allen RG, Tressini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biol Med*. 2000; 28: 463-99.
27. Gitawati R. Radikal Bebas-Sifat dan peran dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. *Cermin Dunia Kedokt*. 1995; 102: 33-6.
28. Marks DB, Marks AD, Smith CM. *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Trans Pedit BU. Jakarta: EGC; 2000.
29. Madge LA, Pober JS. TNF signaling in vascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2001 [cited 2011 Sept 16]; 70: 317-25.
30. Maton A, Hopkins J, McLaughlin CW, Johnson S, Warner MQ, LaHart D, et al. *Human Biology and Health*. New Jersey (USA): Prentice Hall; 1993.
31. Suyatna FD. Radikal bebas dan iskemia. *Cermin Dunia Kedokt*. 1989; 57: 25-8.
32. Chatgililoglu C, Ferreri C, Lykakis IN, Wardman P. Trans-fatty acids and radical stress: what are the real culprits?. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 16]; 14(18):6144-8.
33. Müller H, Seljeflot I, Solvoll K, Pedersen JI. Partially hydrogenated soybean oil reduces postprandial t-PA activity compared with palm oil. *Atherosclerosis* [Internet]. 2001 [cited 2011 Sept 16]; 155: 467-76.
34. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone?. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 [cited 2011 Sept 16]; 26 (8): 2442-50.
35. World Health Organization. *Guidelines for the Development of Health Management Information Systems*. Manila: WHO Regional Office for the Western Pacific; 1993.

Lampiran 1. Detail komposisi pelet tikus**Tabel 8.** Detail komposisi pelet tikus

Product#	D12451		D11102101		D11102102	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	24	20	24	20	24	20
Carbohydrate	41	35	41	35	41	35
Fat	24	45	24	45	24	45
Total		100		100		100
Kcal/gm	4.7		4.7		4.7	
Ingredient	gm	kcal	gm	kcal	gm	kcal
Casein, 80 Mesh	200	800	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12	3	12
Corn Starch	72.8	291.2	72.8	291.2	72.8	291.2
Maltodextrin 10	100	400	100	400	100	400
Sucrose	172.8	691.2	172.8	691.2	172.8	691.2
Cellulose, BW200	50	0	50	0	50	0
Lard	177.5	1597.5	93.075	837.675	8.65	77.85
Primex	0	0	84.425	759.825	168.85	1519.65
Mineral Mix, S10026	10	0	10	0	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix, V10001	10	40	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0	2	0
FD&C Yellow Dye #5	0	0	0.025	0	0	0
FD&C Red Dye #40	0.05	0	0	0	0.025	0
FD&C Blue Dye #1	0	0	0.025	0	0.025	0
Total	858.15	4057	858.15	4507	858.15	4057

Lampiran 2. *Ethical clearance* penelitian

	KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3 Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905	
ETHICAL CLEARANCE No. 223/EC/FK/RSDK/2012		
Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah USULAN Penelitian :		
Peneliti I Judul Penelitian Peneliti II Judul Penelitian Pembimbing Penelitian	: Gery Rifano Hardanto : Pengaruh Konsumsi Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Merah Tikus Sprague Dawley : Jefri Pratama : Pengaruh Konsumsi Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Putih Tikus Sprague Dawley : dr. Kusmiyati Tjahjono, DK, M.Kes dr. Hardian : Dilaksanakan di <ul style="list-style-type: none"> - Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, Yogyakarta - Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Undip, Semarang 	
Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2004.		
Pada laporan akhir peneliti harus melampirkan cara pemeliharaan & dekapitasi hewan coba.		
 dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K) NIP. 19560806 198503 2 001	Semarang, 22 Juni 2012 Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Undip/RS. Dr. Kariadi  Prof. dr. Sri Palimah Muis, M.Sc, Sp.GK NIP. 13036806700	

Lampiran 3. Surat ijin penelitian



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
(LPPT – UGM)
 Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan
 Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM
 Telp. (0274) 7497705, FAX. (0274) 546868, e-mail: lppt_info@mail.ugm.ac.id

1 Maret 2012

Nomor : 0109/UGM/LPPT/LP3HP/1-III/2012
 Lamp : -
 Hal : Ijin Penelitian

Kepada
 Yth : Ketua
 Bagian Biokimia
 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
 Semarang

Dengan Hormat,

Menjawab surat saudara nomor 21/BK/II/2012 tanggal 2 Februari 2012 perihal permohonan ijin Penelitian dengan menggunakan hewan percobaan, sebagai bagian dari tugas akhir dalam menempuh Pendidikan:

Nama : Jefri Pratama
 NIM : G2A008102
 Judul Penelitian : “ Pengaruh Pemberian Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Putih Tikus Sprague Dawley ”

Dengan ini kami beritahukan bahwa permohonan ijin penelitian tersebut dapat kami setujui sesuai peraturan yang berlaku. Adapun dalam pelaksanaannya akan dibantu oleh teknisi kami sdr. Bayu Muryadi.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Bidang Layanan Pra-Klinik LPPT UGM
 Kepala

Dr. drh. Puji Astuti, M. P.
 NIP : 19601012 198703 2 001

Lampiran 4. Spreadsheet data penelitian**Kelompok Kontrol**

Tikus	Pretest			Posttest			Selisih		
	BB	KAP	SDP	BB	KAP	SDP	BB	KAP	SDP
1	232.7	15.4	6.20	257.8	820.6	3.20	25.1	805.2	-3.00
2	276.4	17.4	4.50	327.8	931.0	3.70	51.4	913.6	-0.80
3	220.5	15.8	5.70	240.6	717.2	3.70	20.1	701.4	-2.00
4	248.6	16.5	5.80	277.5	843.8	1.80	28.9	827.3	-4.00
5	266.2	17.2	4.20	273.1	769.6	1.80	6.9	752.4	-2.40
6	263.9	15.8	3.20	296.8	924.0	2.00	32.9	908.2	-1.20
7	262.1	17.1	2.30	292.1	896.2	1.80	30.0	879.1	-0.50
Rerata	252.9	16.5	4.56	280.8	843.2	2.57	27.9	826.7	-1.99

Kelompok Perlakuan 1

Tikus	Pretest			Posttest			Selisih		
	BB	KAP	SDP	BB	KAP	SDP	BB	KAP	SDP
1	253.7	17.5	3.90	321.6	571.4	1.50	67.9	553.9	-2.40
2	234.2	17.3	4.70	300.6	584.3	4.60	66.4	567.0	-0.10
3	265.4	15.6	6.10	287.5	565.4	1.60	22.1	549.8	-4.50
4	267.8	18.6	4.10	331.8	679.5	1.80	64.0	660.9	-2.30
5	201.7	13.6	3.80	261.5	573.6	1.40	59.8	560.0	-2.40
6	254.8	16.7	4.30	307.1	566.4	1.50	52.3	549.7	-2.80
7	239.5	17.4	3.10	314.5	646.3	1.10	75.0	628.9	-2.00
Rerata	245.3	16.7	4.29	303.5	598.1	1.93	58.2	581.5	-2.36

Kelompok Perlakuan 2

Tikus	Pretest			Posttest			Selisih		
	BB	KAP	SDP	BB	KAP	SDP	BB	KAP	SDP
1	239.8	16.3	2.10	325.3	693.7	1.90	85.5	677.4	-0.20
2	263.6	18.9	5.30	340.5	667.2	1.90	76.9	648.3	-3.40
3	268.6	18.2	10.30	343.6	667.5	2.00	75.0	649.3	-8.30
4	275.7	18.8	11.60	362.2	698.0	3.10	86.5	679.2	-8.50
5	247.1	20.0	4.40	352.1	717.2	1.50	105.0	697.2	-2.90
6	258.1	15.2	6.00	356.2	766.6	3.40	98.1	751.4	-2.60
7	292.7	9.0	3.20	369.7	709.5	3.90	77.0	700.5	0.70
Rerata	263.7	16.6	6.13	349.9	702.8	2.53	86.3	686.2	-3.60

Keterangan:

Berat badan (BB) dan Kumulasi asupan pakan (KAP) dalam gram

Sel darah putih (SDP) dalam $\times 10^3$ sel/ mm³

Lampiran 5. Hasil keluaran program statistik

Descriptives: BB

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
BBpre	21	201.70	292.70	253.9571	20.75807
BBpost	21	240.60	369.70	311.4238	36.60763
deltaBB	21	6.90	105.00	57.4667	27.96361
Valid N (listwise)	21				

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BBpre	Kontrol	.248	7	.200	.922	7	.483
	Perlakuan 1	.215	7	.200	.891	7	.280
	Perlakuan 2	.110	7	.200	.985	7	.980
BBpost	Kontrol	.143	7	.200	.985	7	.982
	Perlakuan 1	.165	7	.200	.956	7	.787
	Perlakuan 2	.129	7	.200	.982	7	.969
deltaBB	Kontrol	.213	7	.200	.955	7	.775
	Perlakuan 1	.251	7	.200	.821	7	.065
	Perlakuan 2	.219	7	.200	.884	7	.243

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

T-Test: BB K pre - K post

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BBpre	252.9143	7	20.04607	7.57670
	BBpost	280.8143	7	28.30756	10.69925

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BBpre & BBpost	7	.900	.006

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	BBpre - BBpost	-27.90000	13.49284	5.09981	-40.37879	-15.42121	-5.471	6	.002

T-Test: BB P1 pre - P1 post

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BBpre	245.3000	7	22.83594	8.63117
	BBpost	303.5143	7	23.41961	8.85178

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BBpre & BBpost	7	.717	.070

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	BBpre - BBpost	-58.21429	17.40588	6.57881	-74.31204	-42.11653	-8.849	6	.000

T-Test: BB P2 pre - P2 post

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BBpre	263.6571	7	17.73479	6.70312
	BBpost	349.9429	7	14.83834	5.60836

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BBpre & BBpost	7	.765	.045

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	BBpre - BBpost	-86.28571	11.49020	4.34289	-96.91238	-75.65905	-19.868	6	.000

T-Test: BB Kontrol - P1

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaBB Kontrol	7	27.9000	13.49284	5.09981
Perlakuan 1	7	58.2143	17.40588	6.57881

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaBB Equal variances assumed	.280	.606	-3.642	12	.003	-30.31429	8.32399	-48.45070	-12.17787
Equal variances not assumed			-3.642	11.298	.004	-30.31429	8.32399	-48.57649	-12.05208

T-Test: BB Kontrol - P2

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaBB Kontrol	7	27.9000	13.49284	5.09981
Perlakuan 2	7	86.2857	11.49020	4.34289

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaBB	Equal variances assumed	.003	.955	-8.716	12	.000	-58.38571	6.69842	-72.98031	-43.79112
	Equal variances not assumed			-8.716	11.703	.000	-58.38571	6.69842	-73.02149	-43.74994

T-Test: BB P1 - P2

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaBB	Perlakuan 1	7	58.2143	17.40588	6.57881
	Perlakuan 2	7	86.2857	11.49020	4.34289

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaBB	Equal variances assumed	.412	.533	-3.561	12	.004	-28.07143	7.88298	-45.24696	-10.89589
	Equal variances not assumed			-3.561	10.395	.005	-28.07143	7.88298	-45.54581	-10.59705

Descriptives: SDP

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
SDPpre	21	2.10	11.60	4.9905	2.31946
SDPpost	21	1.10	4.60	2.3429	1.01369
deltaSDP	21	-8.50	.70	-2.6476	2.31509
Valid N (listwise)	21				

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SDPpre	Kontrol	.213	7	.200*	.932	7	.570
	Perlakuan 1	.208	7	.200*	.914	7	.424
	Perlakuan 2	.229	7	.200*	.908	7	.380
SDPpost	Kontrol	.305	7	.049	.758	7	.015
	Perlakuan 1	.400	7	.001	.624	7	.001
	Perlakuan 2	.288	7	.081	.882	7	.234
deltaSDP	Kontrol	.163	7	.200*	.959	7	.812
	Perlakuan 1	.248	7	.200*	.897	7	.315
	Perlakuan 2	.236	7	.200*	.887	7	.259

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

NPar Tests: SDP K Pre - K Post
Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks		N	Mean Rank	Sum of Ranks	
SDPpost - SDPpre	Negative Ranks	7 ^a	4.00	28.00	a. SDPpost < SDPpre
	Positive Ranks	0 ^b	.00	.00	b. SDPpost > SDPpre
	Ties	0 ^c			c. SDPpost = SDPpre
	Total	7			

Test Statistics ^b		
	SDPpost - SDPpre	
Z	-2.366 ^a	
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018	

a. Based on positive ranks.
b. Wilcoxon Signed Ranks Test

NPar Tests: SDP P1 pre - P2 post
Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks		N	Mean Rank	Sum of Ranks	
SDPpost - SDPpre	Negative Ranks	7 ^a	4.00	28.00	a. SDPpost < SDPpre
	Positive Ranks	0 ^b	.00	.00	b. SDPpost > SDPpre
	Ties	0 ^c			c. SDPpost = SDPpre
	Total	7			

Test Statistics^b

	SDPpost - SDPpre
Z	-2.371 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

T-Test: SDP P2 pre - P2 post

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 SDPpre	6.1286	7	3.55514	1.34372
SDPpost	2.5286	7	.92144	.34827

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 SDPpre & SDPpost	7	.083	.860

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	SDPpre - SDPpost	3.60000	3.59815	1.35997	.27227	6.92773	2.647	6	.038

NPar Tests: SDP K - P1
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
deltaSDP	Kontrol	7	8.07	56.50
	Perlakuan 1	7	6.93	48.50
	Total	14		

Test Statistics^a

	deltaSDP
Mann-Whitney U	20.500
Wilcoxon W	48.500
Z	-.514
Asymp. Sig. (2-tailed)	.607
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.620 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests: SDP K - P2
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
deltaSDP	Kontrol	7	8.29	58.00
	Perlakuan 2	7	6.71	47.00
	Total	14		

Test Statistics^b

	deltaSDP
Mann-Whitney U	19.000
Wilcoxon W	47.000
Z	-.703
Asymp. Sig. (2-tailed)	.482
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.535 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests: SDP P1 - P2**Mann-Whitney Test****Ranks**

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
deltaSDP	Perlakuan 1	7	8.57	60.00
	Perlakuan 2	7	6.43	45.00
	Total	14		

Test Statistics^b

	deltaSDP
Mann-Whitney U	17.000
Wilcoxon W	45.000
Z	-.959
Asymp. Sig. (2-tailed)	.337
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.383 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 6. Dokumentasi penelitian



Tempat pelaksanaan penelitian



Pelet tikus asam lemak trans 5% dan 10%
(diimpor dari *Research Diets, Inc.*, NJ, USA)



Pakan untuk Kelompok K
(tanpa asam lemak trans)



Pakan untuk Kelompok P1
(asam lemak trans 5%)



Pakan untuk Kelompok P2
(asam lemak trans 10%)



Laboratorium untuk perawatan
hewan coba



Hygrometer (pengukur kelembaban) dan
termometer (pengukur suhu) ruangan



Tikus dalam kandang individual;
diberi pakan sesuai kelompoknya
dan diberi minum *ad libitum*



Pengambilan darah tikus
melalui *pleksus vena retroorbitalis*
(anyaman vena di belakang mata)

Nama peneliti	: 1. Jefri Pratama 2. Gery Rifano Hardanto 3. Azka Tajussyarof El Muzakka
Judul karya ilmiah	: Pengaruh Konsumsi Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Tikus Sprague Dawley
Penyelenggara	: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia
Prestasi	: Lolos seleksi pendanaan oleh Ditjen Dikti dibiayai tahun 2012 sebesar Rp 9.980.000,00